

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOLAGEN DARI KULIT IKAN PATIN (*Pangasius* sp.) DENGAN ENZIM BROMELIN KASAR KULIT NANAS (*Ananas comosus* L.)

Fitri Yanti^{1,4*}, Niken Dharmayanti², Suryanti³

¹Program Studi Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan, Peminatan Industri Pengolahan Hasil Perikanan

²Politeknik AUP Jakarta, Jl. AUP No1 Pasar Minggu-Jakarta Selatan

³Peneliti BBRPB Kelautan dan Perikanan, Jl. KS Tubun, Petamburan VI, Slipi, Jakarta Pusat

⁴Politeknik Kelautan dan Perikanan Aceh, Jl. Laksamana Malahayati Aceh Besar

Diterima: 28 Juli 2021/Disetujui: 7 April 2022

*Korespondensi : fitri.adr06@gmail.com

Cara sitasi: Yanti F, Dharmayanti N, Suryanti. 2022. Aktivitas antioksidan kolagen dari kulit ikan patin (*Pangasius* sp.) dengan enzim bromelin kasar kulit nanas (*Ananas comosus* L.). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 25(1): 88-96.

Abstrak

Kulit patin merupakan salah satu hasil samping industri perikanan yang berpotensi sebagai sumber alternatif kolagen dan memiliki aktivitas antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah menentukan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam kolagen dari kulit ikan patin yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin kasar dari kulit buah nanas. Kolagen dibuat menggunakan enzim bromelin kasar dari kulit nanas dengan aktivitas 1,0 U/g melalui beberapa tahapan yaitu *pretreatment*, *deproteinase*, *degreasing* dan ekstraksi. Data perlakuan dengan kombinasi waktu perendaman dan konsentrasi enzim bromelin kasar, dengan waktu perendaman 3; 3,5; dan 4 jam serta konsentrasi enzim bromelin kasar 0; 1,5%; 2%. Data dianalisis menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelarutan terbaik didapat pada perlakuan T3.E2 (waktu 4 jam, konsentrasi 1,5%) yaitu 98,96%, viskositas terbaik yaitu 22,67 cP, derajat keasaman (pH) terbaik pada T1.E2 (waktu 3 jam, konsentrasi 1,5%) yaitu 6,73, berat molekul α_1 , α_2 , β dan γ adalah : 131,51 kDa, 110,48 kDa, 202,48 kDa dan 243,93 kDa, aktivitas antioksidan terbaik pada perlakuan T1.E3 (waktu 3 jam, konsentrasi 2%) yaitu 20,45 fero sulfat/g.

Kata kunci: antioksidan, enzim bromelin kasar, ikan patin, kolagen

Antioxidant Activity of Collagen from the Skin of Pangas Catfish (*Pangasius* sp) with Crude Bromelain Enzyme of Pineapple Peel

Abstract

Pangas catfish skins is one of the fishery by-products containing certain compounds which have the potential to be used as an alternative source of collagen having antioxidant activity. The purpose of this study is to determine the antioxidant activity of collagen from the skin of pangas catfish that extracted with bromelain enzyme of pineapple peel. The collagen was made using crude bromelain enzyme from pineapple peel with an activity of 1.0 U/g in several stages, which were pretreatment, deproteinization, degreasing, and extraction, using data analysis a combination of 3; 3.5; and 4 hours with crude enzyme concentrations of 0; 1.5%; 2%. The data was analysed using completely randomized design (CRD). The results showed that the best solubility was obtained in the T3.E2 (4 hours, concentration 1.5%) treatment which was 98.96%. The best viscosity was 22.67 cP. The best acidity (pH) at T1.E2 (3 hours, concentration 1.5%) was 6.73. The molecular weights α_1 , α_2 , β and γ were: 131.51 kDa, 110.48 kDa, 202.48 kDa and 243.93 kDa. The best antioxidant activity was in the T1.E3 (3 hours, concentration 2%) treatment, which was 20.45 ferrous sulfate/g.

Keywords: antioxidant, catfish, collagen, crude bromelain enzyme

PENDAHULUAN

Ikan patin (*Pangasius sp*) merupakan komoditas air tawar Indonesia yang produksinya sangat meningkat seiring dengan permintaan pasar terhadap filet daging ikan patin. Laheng *et al.* (2016), permintaan pasar baik dari pasar domestik dan internasional meningkat pesat terhadap industri filet ikan patin. Data produksi ikan patin pada tahun 2016, mencapai 437.111 ton, dan meningkat sangat signifikan dari tahun sebelumnya sebesar 339.069 ton. Pada tahun 2018 produksi ikan patin meningkatkan mencapai 604.587 ton (KKP 2018). Dari data tersebut menunjukkan bahwa produksi patin meningkat setiap tahunnya. Oleh karena itu, dengan peningkatan produksi juga diikuti oleh peningkatan hasil samping yang terdiri dari kulit, kepala, tulang dan isi perut. Hasil samping yang dihasilkan dari industri pengolahan cukup signifikan mencapai 20-80% dari total bahan baku. Hasil samping tersebut dapat di olah menjadi produk yang bernilai tambah tinggi antara lain protein, minyak, asam amino, mineral, enzim, peptida bioaktif, gelatin dan kolagen (Gahly *et al.* 2013). Pengolahan patin menjadi produk filet akan menghasilkan hasil samping berupa kulit sebesar 5,12-6,14 % dari berat ikan (Hastarini 2012), sehingga dengan jumlah persentasi tersebut maka berpotensi untuk dapat dijadikan bahan baku kolagen.

Kolagen merupakan salah satu senyawa dari protein *fibrous* yang ada dalam jaringan ikat dan komponen yang menyusun komponen struktural utama, selain itu juga merupakan komponen bagian tubuh seperti gigi, otot tulang, kuku. Kolagen terdiri dari tiga rantai polipeptida yang merupakan konformasi *triple helix* (Walters dan Stegemann 2014; Pal *et al.* 2015) dan termasuk ke dalam kelompok protein yang larut dalam air. Kolagen yang terdapat pada gigi, tendon, kulit, kornea mata dan tulang mencapai 25-30% dari total protein hewani (Potaros *et al.* 2009; Sinthusamran *et al.* 2013). Saat ini kolagen komersial banyak yang diproduksi dari babi dan sapi, penelitian banyak dilakukan untuk menggantinya yaitu dari hasil samping produksi perikanan. Hal ini tentunya dapat meningkatkan nilai tambah hasil samping

produksi perikanan baik dari sisi fungsi dan ekonominya. Aktivitas biologi kolagen terus dilakukan penelitian untuk mengetahui manfaat yang penting bagi tubuh.

Kolagen yang diperoleh dari proses secara enzimatik menggunakan enzim protease akan menghasilkan hidrolisat protein kolagen yang diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis yang bermanfaat di bidang kesehatan. Aktifitas biologis dari protein dalam bentuk peptida masih rendah dan dapat ditingkatkan dengan proses hidrolisis oleh enzim yang dapat melepaskan dari ikatan panjang fragmen protein kompleks (Murray dan Fitzgerald 2007). Aktivitas biologis kolagen dapat dimanfaatkan di bidang kesehatan dan kecantikan. Murray dan Fitzgerald (2007) aktivitas biologis protein dalam bentuk kompleks polipeptida rendah dan untuk meningkatkan aktivitas biologisnya dapat melalui proses hidrolisis oleh enzim sehingga protein kompleks dapat terlepas dari ikatan fragmennya. Wu *et al.* (2018) melaporkan bahwa aktivitas antioksidan dan antibeku terdeteksi pada hidrolisat kolagen yang di ekstraksi dari ikan salmon. Ahmed dan Chun (2018) dalam penelitiannya melaporkan bahwa dalam hidrolisat kolagen kulit ikan tuna ditemukan adanya aktivitas antioksidan dan antimikroba.

Radikal bebas yang berasal dari pangan serta lingkungan yang dapat menyebabkan stres oksidatif pada tingkat sel dan apabila terjadi secara kontinu maka akan menyebabkan rusaknya sistem metabolisme yang berujung penyakit degradatif. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat untuk menghambat laju dari reaksi oksidasi (Valko *et al.* 2007). Hidrolisat protein telah diketahui mengandung aktivitas antioksidan dengan mekanisme donor atom hidrogen sehingga dapat menangkal laju oksidasi (Mendis *et al.* 2005).

Sejumlah penelitian telah dilakukan terkait dengan pemanfaatan hasil samping produksi perikanan dengan cara ekstraksi kolagen, di antaranya kolagen dari kulit ikan pollock (Sun *et al.* 2016), gelembung renang ikan patin (Simamora *et al.* 2019), dan hasil samping mata tuna (*Thunnus sp.*). Prastyo (2020) melaporkan bahwa aktivitas

antioksidan dari hidrolisat kolagen kulit ikan nila mencapai IC_{50} sebesar $93,32\mu\text{g}/\text{mL}$. Penelitian lebih lanjut untuk sediaan bioaktif antioksidan perlu dilakukan dari hasil samping produksi perikanan.

Jumlah dari hasil samping produksi perikanan yang melimpah, sehingga perlu adanya penanganan yang optimal untuk meningkatkan nilai ekonomi serta nilai fungsi yang dimiliki. Selain itu diketahui bahwa sediaan obat dari bahan alami lebih sedikit efek samping dibandingkan dengan sediaan obat yang disintesis secara kimiawi. Tujuan penelitian ini adalah menentukan aktivitas antioksidan kolagen kulit ikan patin yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin kasar dari kulit buah nanas.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan baku utama yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah kulit ikan patin yang diperoleh dari perusahaan PT Sumatera Food industri Lampung, bahan kimia yang digunakan adalah enzim bromelin kasar 1,0 U/g, NaOH (Merck, Jerman), CH_3COOH (Merk, Jerman), akuades, dan bahan analisis lainnya. Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kain saring 500 mesh, gelas ukur (pyrex), neraca digital Satorius, sentrifus (5810 R Jerman), pengaduk magnet dengan lempeng hangat, pH meter (Ionix, PH5S), *Rion Viscotester VT - 04F* (Rion, China).

Metode Penelitian

Penelitian ini diawali dengan proses preparasi bahan baku dan karakteristik kulit ikan patin berupa analisis kimia komposisi proksimat, praperlakuan menggunakan NaOH; *degreasing* dengan CH_3COOH dan ekstraksi menggunakan enzim bromelin kasar.

Preparasi Dan Ekstraksi Kulit Ikan Patin (Suptijah 2018, Hadfi dan Sarbon 2019, Baehaki 2016, Hartina *et al.* 2019) dengan Modifikasi

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini menggunakan kulit ikan patin yang diperoleh dari industri pengolahan fillet dengan ukuran ikan patin ± 1 kg/ekor. Ikan dikirimkan ke laboratorium, dengan

cara kulit ikan sudah dibekukan terlebih dahulu kemudian dikemas dalam styrofoam agar kualitas kulit ikan patin tetap terjaga. Kemudian kulit ikan patin dilakukan preparasi dengan cara membersihkan kulit dari sisa daging yang menempel, dan dilakukan pengecilan ukuran $0,5 \times 0,5 \text{ cm}^2$, yang berfungsi untuk memperluas permukaan sehingga mempermudah dalam tahap *degreasing*.

Proses *degreasing* bertujuan untuk menghilangkan protein nonkolagen menggunakan NaOH. Kulit ikan patin direndam dalam larutan NaOH 0,05 M dengan perbandingan 1:10 (w/v) pada waktu perendaman selama 12 jam. Larutan alkali diganti setiap 2 jam pada suhu 4°C modifikasi (Hadfi dan Sarbon 2019). Sampel kemudian dicuci dengan air dingin mencapai pH netral dicapai.

Setelah *degreasing*, kemudian dihidrolisis menggunakan asam asetat (CH_3COOH). Hidrolis dengan larutan asam dilakukan dengan merendam sampel dengan asam asetat 1:6 (w/v) dengan konsentrasi 0,03; 0,05; 0,1 M selama 1,5 jam modifikasi (Suptijah 2018). Sampel disaring dengan menggunakan saringan kain ukuran 25 mikron.

Ekstraksi kolagen kulit ikan dilakukan menggunakan metode (Baehaki 2016 dan Hartina 2019) yang dimodifikasi, selanjutnya dilakukan proses ekstraksi menggunakan enzim bromelin kasar. Kulit ikan diberi perlakuan akuades disesuaikan dengan rasio 2:1 (b/v), kemudian enzim bromelin kasar ditambahkan pada konsentrasi rancangan beberapa konsentrasi 0; 1,5; 2 (% enzim/substrat) dengan lama waktu ekstraksi 2, 3, 4 jam dan kemudian diinkubasi dengan suhu 30°C . Setelah ekstraksi, sampel didinginkan pada suhu -20°C selama 10 menit untuk menonaktifkan enzim. Setelah ekstraksi, ekstrak disaring menggunakan kain dengan ukuran 25μ kemudian dikeringkan pada suhu ruang dingin $18-20^\circ\text{C}$.

Prosedur Pengujian

Analisis kelarutan (Shon *et al.* 2011)

Pengujian kelarutan kolagen dengan cara sampel seberat 0,5 g dilarutkan ke dalam akuades 5 mL hingga homogen pada suhu ruang. Kemudian sampel disentrifugasi pada

kecepatan 4.500 xg suhu 22°C selama 30 menit. Endapan yang dihasilkan kemudian dipisahkan dan dikeringkan dalam oven 130°C selama 20 menit kemudian ditimbang. Untuk menghitung kadar kelarutan menggunakan rumus:

$$\text{Ketidaklarutan (\%)} = \frac{\text{Berat Akhir}}{\text{Berat Awal}} \times 100$$

$$\text{Kelarutan (\%)} = 100 - \text{ketidaklarutan}$$

Viskositas

Pengukuran viskositas berdasarkan modifikasi (Ahmad dan Benjakul 2010), diukur menggunakan *Viscometer Brookfield*. Kolagen dilarutkan menggunakan asam asetat 0,1 M dengan konsentrasi 0,3% (b/v). Larutan diukur menggunakan spinder no 1 pada kecepatan 60 rpm.

pH (AOAC 2005)

Kolagen kering diambil sebanyak 1 g dilarutkan dengan akuades 20 mL. pH diukur menggunakan alat pH meter digital. Elektroda pada pH meter dicelupkan ke dalam sampel dan pada proyektor pH meter akan diperoleh angka yang stabil.

Berat Molekul (Astina 2016)

Pengujian berat molekul diperlukan sebanyak 2 mg sampel kering kemudian dilarutkan ke dalam *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS) 5% sebanyak 1 mL, kemudian diinkubasi menggunakan penangas air agar dapat terkontrol selama 1 jam pada suhu 85°C. Campuran selanjutnya dimasukkan dalam sentrifugasi pada suhu kamar 4.000 xg selama 5 menit. Supernatan yang didapat dicampur dengan bufer (TrisHCl 60 mM, pH 6,8 mengandung 2% SDS dan 25% gliserol) dengan rasio 1:1 (v/v) dan mengandung 10% β-merkaptotanol (βME). Kemudian campuran tersebut dipanaskan dalam air mendidih selama 2 menit. Sampel sebanyak 5 μL dimasukkan ke dalam *gel polyacrylamide* yang terdiri dari 3% *stacking gel* dan 7,5% *running gel* dan dielektroforesis pada arus konstan 15 mA/gel selama 3 jam. Setelah elektroforesis selesai, gel diwarnai dengan 0,05% (b/v) *coomassie blue R-250* dalam metanol 15% (v/v) dan asam asetat 5% (v/v)

selama 3 jam, kemudian sampel *destaining* dengan campuran 30% (v/v) metanol dan 10% (v/v) asam asetat selama 2 jam. Berat molekul protein sampel diperkirakan berdasarkan berat molekul marker. Marker yang digunakan adalah *Pre-stained Protein Markers (Broad Range) for SDS-PAGE* dari Nacalai Tesque dengan berat molekul 10 kDa sampai 260 kDa.

Antioksidan FRAP

Pengujian aktivitas antioksidan kolagen ikan patin ekstraksi dengan enzim bromelin kasar dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) metode Kumar *et al.* (2014) yang telah dimodifikasi. Preparasi reagen FRAP dilakukan dengan cara bufer asetat 300 mM pH 3,6 (8 mL CH₃COONa dan 92 mL CH₃COOH), dan 10 mM larutan TPTZ (2,4,6-tripyridyl-striazine) dalam 40 mM HCl dan FeCl₃. Pengukuran absorbansi menggunakan 400 μL sampel dan 2.600 μL reagen FRAP. Sampel dan reagen FRAP dimasukkan ke dalam tabung kemudian di vorteks agar homogen, kemudian diinkubasi menggunakan penangas air agar terkontrol dengan suhu 37°C selama 30 menit. Pengukuran absorbansi dilakukan di panjang gelombang 595 nm. Kurva standar dalam metode ini digunakan larutan fero sulfat dengan beberapa konsentrasi.

Analisis Data

Proses ekstraksi menggunakan enzim bromelin kasar dengan variasi waktu dan konsentrasi yaitu waktu 3 jam (T1), 3,5 jam (T2) dan 4 jam (T3) dan konsentrasi enzim bromelin kasar 0 (E1); 1,5% (E2); 2% (E3) dengan pengulangan sebanyak 3 kali ulangan. Data yang didapat dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA) dan apabila ada perbedaan nyata maka akan dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi Kimia Kulit Ikan Patin

Sampel kulit ikan yang telah dilakukan proses pembersihan, selanjutnya dilakukan pengujian proksimat. Tujuan pengujian proksimat ini yaitu untuk mengetahui

kandungan gizi untuk melihat potensi kulit ikan patin yang akan di gunakan sebagai bahan baku dalam menghasilkan kolagen. Karakteristik kimia bahan baku kulit ikan patin dapat dilihat pada *Table 1*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa protein bahan baku kulit ikan patin lebih tinggi di bandingkan dengan komposisi lainnya. Kandungan protein kulit ikan patin lebih tinggi dibandingkan dengan ikan gabus (Wulandari 2016) dan dari ikan patin (Devi *et al.* 2017) akan tetapi mempunyai nilai sama dengan dengan ikan tuna (Hadinoto dan Idrus 2018).

Kandungan lemak kulit ikan patin lebih rendah bila dibandingkan dengan ikan tuna (*Thunnus albacore*) (Hadinoto dan Idrus 2018) dan lebih tinggi jika dibandingkan dengan ikan gabus dan ikan patin (Wulandari 2016, Devi *et al.* 2017). Sedangkan kadar abu hasil analilis lebih rendah bila dibandingkan ikan gabus (Wulandari 2016) dan ikan ikan tuna (Hadinoto dan Idrus 2018) dan lebih tinggi dibandingkan dengan ikan patin dari analisis (Devi *et al.* 2017).

Kelarutan

Hasil analisis varian menunjukkan bahwa faktor T (waktu perendaman) tidak berpengaruh nyata (0,138) ($p>0,01$) dan faktor E (konsentrasi enzim bromelin kasar) tidak berpengaruh nyata ($p>0,01$) terhadap kelarutan. Terdapat interaksi yang sangat nyata ($p<0,01$) antara faktor T dengan E terhadap kelarutan.

Nilai terbaik kelarutan dari kolagen yang diekstrak menggunakan enzim bromelin kasar yaitu perlakuan T3.E2 mencapai 98,96%, nilai tersebut lebih tinggi jika dibandingkan (Pertiwi 2016) yaitu 91,36% dan kelarutan

kolagen yang baik akan sangat mempermudah pengaplikasiannya (Pertiwi 2016).

Viskositas

Hasil analisis varian menunjukkan bahwa antara faktor T, faktor E dan interaksi keduanya tidak berpengaruh nyata ($p>0,01$) terhadap viskositas. Nilai terbaik viskositas dari ekstraksi kolagen kulit ikan patin dengan enzim bromelin kasar yaitu 22,67 cP pada suhu ruang, nilai yang dihasilkan kecil jika dibandingkan dengan hasil penelitian dari Ahmad dan Benjakul (2010) yaitu kolagen PSC (*Pepsin Soluble Collagen*) dari tuna sirip kuning dengan nilai viskositas 21,1 cP, tuna albakor 22,8 cP, viskositas akan turun apabila suhu dinaikkan menjadi 32°C, ini karena ikatan hidrogen yang berperan untuk menjaga kestabilan struktur kolagen telah rusak.

Derajat keasaman (pH)

Tabarestani *et al.* (2012) menyatakan bahwa nilai derajat keasaman dari kolagen berkaitan dengan kelarutan, hal ini juga dapat disebabkan penggunaan jenis dan konsentrasi asam dan basa yang berbeda selama proses hidrolisis. Hasil pH berdasarkan analisis varian menunjukkan bahwa faktor T tidak berpengaruh nyata (0,394) ($p>0,05$) dan faktor E sangat berpengaruh nyata ($p<0,01$) terhadap pH. Faktor T dengan E memiliki interaksi yang sangat nyata ($p<0,01$) terhadap pH. Hasil uji DMRT Tidak ada perbedaan nyata antara perlakuan T1, T2 dan T3 akan tetapi terdapat perbedaan nyata pada perlakuan E1 terhadap E2, antara perlakuan E1 dan E3, serta antara perlakuan E2 dan E3.

Nilai pH terbaik yang diperoleh dari hasil ekstraksi kolagen dari kulit ikan patin dengan

Table 1 Chemical composition of fish skin

Parameter	Catfish ¹ (<i>Pangasius</i> sp) (%)	Catfish ² (<i>Chana striata</i>) (%)	Tuna ³ (<i>Thunnus albacares</i>) (%)	Catfish ⁴ (<i>Pangasius pangasius</i>) (%)
Moisture	67.22	77.18	59.31	66.80
Ash	0.16	0.47	5.73	0.14
Protein	27.19	20.36	27.32	19.48
Lipid	3.39	1.42	6.17	2.33

Note : ¹Research data; ²Wulandari 2016; ³Hadinoto and Idrus 2018; ⁴Devi *et al.* 2017

enzim bromelin kasar dari kulit nanas yaitu pada T1.E2 6,73, hasil ini sesuai jika dilihat dari syarat mutu kolagen SNI 8076:2014 yaitu 6,5-8. Nilai tersebut lebih tinggi jika dibandingkan dengan kolagen oleh Peng *et al.* (2004) yaitu berkisar antara 3,8-4,7, kolagen dari kulit ikan gabus sebesar 5,24 (Wulandari 2016) dan dari kulit ikan patin yang diekstrak dengan suhu 40°C sebesar 5,53 (Devi *et al.* 2017).

Terdapat perbedaan nilai derajat keasaman (pH) kolagen dapat disebabkan adanya jenis dan konsentrasi larutan berbeda yang ditambahkan baik asam atau basa serta proses untuk penetralan. Nilai pH rendah juga dapat diakibatkan oleh kandungan asam asetat yang masih tersisa sehingga konsentrasi ion hidrogen yang lebih tinggi (Lower 2013), dan nilai pH yang juga disebabkan oleh nilai pH yang rendah dari asam asetat yang digunakan yaitu 2,3 (Skierka dan Sadowska 2007) karena adanya proses hidro-ekstraksi sebelum proses ekstraksi dengan enzim bromelin kasar.

Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan kolagen yang diekstrak kulit ikan patin ditentukan menggunakan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Metode pengujian dengan FRAP adalah untuk menentukan aktivitas antioksidan yaitu dengan mengukur antioksidan dalam mereduksi Fe^{3+} pada kompleks Fe^{3+} TPTZ menjadi Fe^{2+} TPTZ dengan cara mendonorkan elektronnya.

Hasil pengamatan aktivitas antioksidan pada kolagen menunjukkan nilai tertinggi pada perlakuan T1.E3 memiliki nilai yaitu 20,45 μ mol fero sulfat/g, dan pada perlakuan T2.E3 dengan nilai 16,30 μ mol fero sulfat/g dan pada perlakuan T3.E3 yaitu 15,08 μ mol fero sulfat/g dan nilai terendah yaitu pada perlakuan T2.E2 yaitu 7,00 μ mol fero sulfat/g dan sangat berbeda nyata dengan perlakuan kontrol tanpa penambahan enzim bromelin kasar yaitu 4,52 μ mol fero sulfat/g. Hasil analisis sidik ragam perbedaan waktu tidak berbeda nyata dan jumlah enzim yang digunakan berpengaruh nyata, akan tetapi interaksi keduanya memberikan pengaruh sangat nyata

($p < 0,05$) terhadap aktivitas antioksidan. Hasil analisis antioksidan kolagen kulit ikan patin yang diekstrak dengan enzim bromelin kasar dapat dilihat pada *Figure 1*.

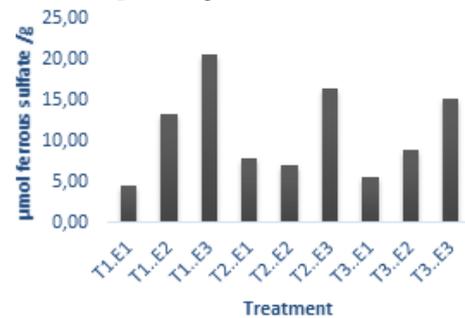


Figure 1 Antioxidant activity of pangas collagen

Sejumlah penelitian kolagen yang diekstraksi dari ikan memiliki stabilitas antioksidan misalnya hidrolisat kolagen dari kulit Pollack yang diekstraksi secara alkalase, (Sun *et al.* 2016). Hidrolisat kolagen dari ikan tuna mempunyai aktivitas antioksidan dengan IC_{50} sebesar $66,28 \pm 0,12 \mu$ g/mL (Nurilmala *et al.* 2020). Aktivitas antioksidan juga telah dilaporkan dengan pengujian DPPH terhadap hidrolisat kolagen yang diekstrak dengan enzim papain dari kulit dan tulang ikan patin dengan aktivitas antioksidan dari tulang ikan sebesar 71,55% dan dari kulit ikan 63,06% (Baehaki 2015).

Jumlah asam amino hidrofobik yang tinggi dalam urutan peptida, terutama jenis glisina dan prolina berkontribusi secara signifikan dalam aktivitas antioksidan karena secara tepat bereaksi oleh hidrofobik. Oleh karena itu, kolagen dari kulit ikan yang dihasilkan mengandung elektron peptida yang dapat bereaksi dengan radikal bebas untuk mengubahnya dan dapat digunakan sebagai bahan tambahan dan makanan fungsional dan obat-obatan sebagai sumber alternatif antioksidan alami.

Berat Molekul

Berat molekul kulit ikan patin menggunakan ekstraksi enzim bromelin kasar 1,0 U/g memiliki struktur yang identik dengan $\alpha 1$ dan $\alpha 2$. Rantai α menunjukkan bahwa kolagen kulit ikan patin termasuk kolagen tipe

I. Hasil *SDS-Page* kolagen kulit ikan patin yang diekstrak dengan enzim bromelin kasar dapat dilihat pada *Figure 2*.

Kolagen yang diekstraksi dari kulit ikan memiliki struktur identik dengan $\alpha 1$ dan $\alpha 2$ yang termasuk dalam golongan kolagen tipe I. (Ogawa *et al.* 2004), kolagen tipe I mengandung 3 rantai polipeptida dengan masing-masing berat molekul 94 kDa dan banyak ditemukan pada jaringan ikat dan tendon (Shoulder dan Raines 2009) Polipeptida dari kolagen tipe I terdiri rantai α dengan struktur heliks yang melingkari rantai lainnya membentuk untaian tali. Gelse *et al.* (2003) menyatakan bahwa kolagen tipe I mempunyai Struktur *triple helix* yang terbentuk atas heterotrimer dari dua rantai $\alpha 1$ dan satu rantai $\alpha 2$. Struktur β (α chain dimers) dan γ (α chain trimers) menunjukkan adanya ikatan silang kovalen pada molekul kolagen (Chi *et al.* 2014). Kulit ikan patin yang diekstrak menggunakan enzim bromelin kasar dari kulit nanas

memiliki struktur kolagen tipe I yang mengandung struktur identik $\alpha 1$, $\alpha 2$, β , dan γ . Kolagen kulit ikan patin enzim bromelin kasar mempunyai berat molekul $\alpha 1$, $\alpha 2$, β , dan γ yang setara dengan kolagen yang sumber bahan baku sama dari penelitian (Singh *et al.* 2011) dan beberapa ikan laut (Bae *et al.* 2008) (*Table 1*). Dari hasil berat molekul tersebut terlihat bahwa kolagen yang diekstraksi dengan enzim bromelin kasar belum berubah menjadi produk turunan kolagen yaitu gelatin. Karim dan Bhat (2009) menyatakan bahwa berat molekul dari gelatin lebih rendah dari kolagen yaitu dari 80-250 kDa. Hermanto *et al.* (2013) juga menyampaikan bahwa gelatin babi mempunyai berat molekul sebesar 28.6 kDa -36.2 kDa.

KESIMPULAN

Kolagen yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin kasar dari kulit nanas menghasilkan aktivitas antioksidan terbaik pada perlakuan dengan waktu perendaman

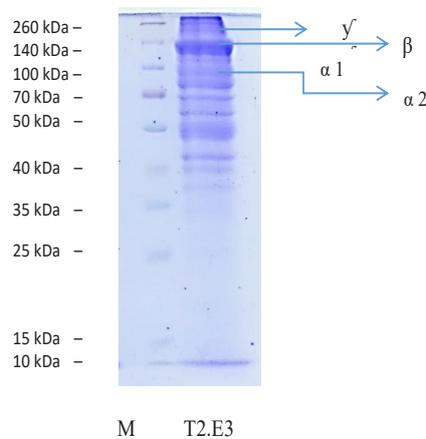


Figure 2 SDS-Page of catfish skin (M) marker, at 4 hours and 2% concentration (T2.E3) collagen extraction with crude bromelain enzyme

Table 2 Collagen molecules weight from several types of fish

Collagen Resources	α^1 (kDa)	α^2 (kDa)	β (kDa)	γ (kDa)
Skin of Catfish ¹	131.51	110.48	202.48	243.92
Skin of Catfish (<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>) ²	>116.00	116.00	220.00	>220.00
Redbelly Yellowtail Fusilier Fish Skin (PaSC) ³	122.00	112.00	186.00-203.00	251.00
Fish skin of <i>Siganus fuscescens</i> , <i>Kyphosus bigibbus</i> , <i>Myliobatis tobijei</i> , <i>Dasyatis akajei</i> , <i>Dasyatis laevigatas</i> ⁴	120.00	112.00-114.00		

Note : ¹Research data; ²Singh *et al.* (2011); ³Astiana *et al.* (2016); ⁴Bae *et al.* (2008)

3 jam dan konsentrasi enzim 2% (T1.E3), pH yang sesuai dengan SNI 8740:2014 yaitu pada perlakuan T1E2, viskositas pada suhu ruang akan tetapi tingkat kelarutan kolagen dalam akuades terbaik pada perlakuan T3E2. Berat molekul dari kolagen ekstraksi enzim bromelin kasar dikategorikan tipe I dan dapat dikatakan bahwa ekstraksi dapat dilakukan dengan enzim bromelin kasar kulit nanas.

Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kementerian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia/Badan Riset dan Sumberdaya Manusia Kelautan dan Perikanan atas dukungan pendanaan Magister Terapan dan Penulis mengucapkan terimakasih Atas bantuan dan dukungan selama penelitian kepada Ibu Pipih Suptijah.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad M, Benjakul S. 2010. Extraction and characterization of pepsin soluble collagen from the skin of unicorn leather jacket (*Aluterus monoceros*). *Food Chemistry*. 120:817-824.
- Ahmed R, Chun BS. 2018. Subcritical water hydrolysis for the production of bioactive peptides from tuna skin collagen. *The Journal of Supercritical Fluids*. 141(1): 1-35.
- Astiana I. 2016. Efektifitas Asam Dan Enzim Papain Dalam Menghasilkan Kolagen Dari Kulit Ikan Ekor Kuning (*Caesto cuning*). [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Astiana I, Nurjanah, Nurhayati T. 2016. Karakterisasi kolagen larut asam dari kulit ikan ekor kuning (*Caesto cuning*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 19(1): 79-93.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. *Official Method of Analysis*. 18 Ed. The Association of Official Analytical Chemist. Inc.
- Baehaki A, Nopianti R, Anggraeni S. 2015. Antioxidant activity of skin and bone collagen hydrolyzed from striped catfish (*Pangasius pangasius*) with papain enzyme. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 7(11): 131-135.
- Baehaki A, Lestari SD, Desliani I. 2016. Collagen hydrolysis from skin and bone of Pangasius catfish Prepared by Bromelain Enzyme and Antioxidant Activity of Hydrolysate. *Der Pharma Chemica*, 8 (4):155-158.
- Bae I, Osatomi K, Yoshida A, Osako K, Yamaguchi A, Hara K. 2008. Chemical properties of acid-soluble collagens extracted from the skins of underutilized fishes. *Food Chemistry*. 108: 49-54.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2014. SNI 8076:2014. *Standar Nasional Indonesia tentang kolagen kasar dari sisik ikan*. Jakarta(ID):Badan Standardisasi Nasional.
- Chi C, Wang B, Li Z-R, Luo H-Y, Ding G-F, Wu C-W. 2014. Characterization of acid-soluble collagen from the skin hammerhead shark (*Sphyrna lewini*). *Journal of Food Biochemistry*. 38: 236-247.
- Devi HLNA, Suptijah P, Nurilmala M. 2017. Efektivitas alkali dan asam terhadap mutu kolagen dari kulit ikan patin. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(2): 255-265.
- Hadfi N.H. and Sarbon, N.M. 2019. Physicochemical properties of silver catfish (*Pangasius* sp.) skin collagen as influenced by acetic acid concentration. *Food Research*. 3(6) :783-790.
- Haditono S, Idrus S. 2018. Proporsi dan kadar proksimat bagian tubuh ikan tuna ekor kuning (*Thunnus albacares*) dari Perairan Maluku. *Majalah BIAM (Bahan Alam, Industri, Aneka Pangan, Minyak Atsiri)* 14:51-57
- Razali UHM, Qhairul A, Mamat H, Qhairul N. 2019. Properties of hydrolysed collagen from the skin of milkfish (*Chanos chanos*) as affected by different enzymatic treatments. *International Journal of Research Science & Management*. 6(2): 34-41.
- Hastarini E, Fardiaz D, Irianto HE, Budijanto S. 2012. Karakteristik minyak ikan dari limbah pengolahan filet ikan patin siam (*Pangasius hypophthalmus*) dan patin jambal (*Pangasius djambal*). *AGRITECH*.32(4):403-410.
- [KKP] Kementerian Kelautan dan Perikanan.

2018. *Produktivitas Perikanan Indonesia Pusat Data Statistika dan Informasi Kementerian Kelautan dan Perikanan Tahun 2018*. Jakarta (ID): Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Murray BA, Fitzgerald RJ. 2007. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins: Biochemistry, bioactivity and production. *Current Pharmaceutical Design*. 13(8): 773-791.
- Ogawa M, Portier RJ, Moody MW, Bell J, Schexnayder MA, Losso JN. 2004. Biochemical properties of bone and scale collagens isolated from the subtropical fish black drum (*Pogonias cromis*) and sheepshead seabream (*Archosargus probatocephalus*). *Food Chemistry*. 88: 495-501.
- Peng Y, Glattauer V, Werkmeister JA, Ramshaw JAM. 2004. Evaluation for collagen products for cosmetic application. *Journal of Cosmetic Science*. 55:327-342.
- Pertiwi RM. 2016. Ekstraksi dan karakterisasi kolagen larut papain dari kulit ikan tuna sirip kuning [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Potaros T, Raksakhulthai N, Runglerdreangkraj, Worawattanamateekul W. 2009. Characteristics of collagen from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin isolated by two different methods. *Natural Science*. 43(3):584-593.
- Prastyo DT, Trilaksana W, Nurjanah. 2020. Aktivitas antioksidan hidrolisat kolagen kulit ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 23(3):423-433.
- Suptijah P, Indriani D, Wardoyo SE. 2018. Isolasi dan karakterisasi kolagen dari kulit ikan patin (*Pangasius* sp.). *Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*. 8(1): 8-23.
- Singh P, Benjakul S, Maqsood S, Kishimura H. 2011. Isolation and characterization of collagen extracted from the skin of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Food Chemistry*. 124: 97-105.
- Sintusamran S, Benjakul S, Kishimura H. 2013. Comparative study on molecular characteristics of acid soluble collagens from skin and swim bladder of seabass (*Lates calcarifer*). *Food Chemistry* 138:2435-2441.
- Shon j, Ji-Hyun E, Hwang SJ, Jong Bang E. 2011. Effect of processing conditions on functional properties of collagen powder from skate (*Raja kenoei*) skins. *The Journal of Food Science Biotechnology*. 20 (1):99-106.
- Tabarestani SH, Maghsoudlou Y, Motamedzadega A, Mahoonak SAR, Rostamzad H. 2012. Study on some properties of acid-soluble collagens isolated from fish skin and bones of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *International Food Research Journal*. 19(1):251-257.
- Walters BD, Stagemann JP. 2014. Review: Strategies for directing the structure and function of three-dimensional collagen biomaterials across length scales. *Acta Biomaterialia*. 10(4):1488-1501.
- Wulandari. 2016. Karakteristik fisikokimia kolagen yang diisolasi dengan metode hidroekstraksi dan stabilisasi nanokolagen kulit ikan gabus (*Channa Stiata*) [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Wu RB, Wu CL, Liu D, Yang XH, Huang JF, Zhang J, Liao BQ. 2018. Antioxidant and anti-freezing peptides from salmon collagen hydrolysate prepared by bacterial extracellular protease. *Food Chemistry*. 248: 346-352.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. 2007. Free radical and antioxidant in normal physiological function and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 39(1): 44-84.